



Universidad
Zaragoza

TRABAJO FIN DE GRADO
GRADO EN ÓPTICA Y OPTOMETRÍA
2009 – 2013

**Valoración del Optomotor
como método de control de AV
en modelos degenerativos de
ratas**

Realizado por: Paula Olmos Larena

Directores: Isabel Pinilla Lozano

Francisco Segura Calvo

- ÍNDICE -

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Concepto de Retinosis Pigmentaria.....	1
1.2 Nistagmo optocinético	2
1.3 Motivación y objetivos del trabajo	3
 2. MATERIAL Y MÉTODOS	 3
2.1 Sujetos.....	3
2.2 Descripción del aparato	4
2.3 Funcionamiento del aparato	5
2.4 Determinación de los umbrales visuales	7
2.4.1 Determinación de la AV	7
2.4.2 Determinación de la SC.....	7
2.5 Análisis estadístico	8
 3. RESULTADOS	 9
3.1 Agudeza visual.....	9
3.2 Sensibilidad al contraste	9
 4. DISCUSIÓN	 13
 5. CONCLUSIONES	 14
 6. BIBLIOGRAFÍA.....	 15

1.INTRODUCCIÓN

1.1 CONCEPTO DE RETINOSIS PIGMENTARIA

La Retinosis Pigmentaria (RP) es la causa de degeneración hereditaria más frecuente de la retina y que afecta aproximadamente a 1 de cada 3.500 personas en el mundo desarrollado [1]. Fue diagnosticada por primera vez a finales del siglo XIX, pero sin embargo, a día de hoy todavía sigue siendo una gran desconocida dentro de la medicina [2].

La RP está constituida por un grupo heterogéneo de trastornos degenerativos de la retina, los cuales tienen en común una base polimórfica hereditaria y quedan lugar a una pérdida progresiva de la función de la retina siendo una de las causas más importantes de ceguera en la edad adulta [3].

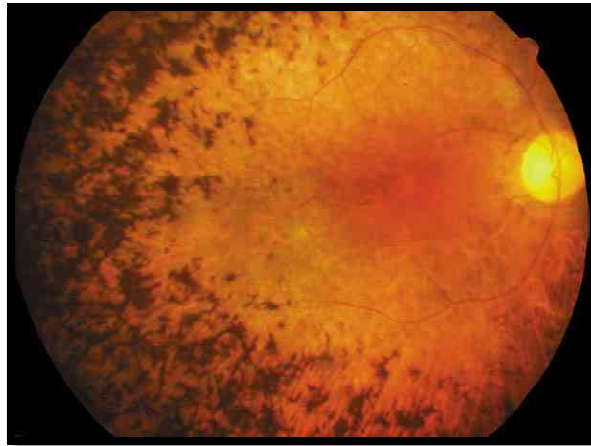
La RP actúa de la siguiente manera: primero, se afecta la estructura y la función de los fotorreceptores y del epitelio pigmentario de la retina (EPR) y como consecuencia a esta pérdida de los fotorreceptores por apoptosis, el resto de células de la retina se ven también afectadas, dando como resultado una atrofia retiniana generalizada y remodelación de las capas de la retina.

El signo más frecuente de la RP es la hemeralopía o dificultad de visión nocturna debido a la función anómala de los bastones. Se produce una restricción del campo visual periférico, iniciándose las alteraciones campimétricas entre los 30º y 50º (zona de mayor concentración de bastones), pero posteriormente avanza también hacia la periferia y hacia el centro, dejando un respeto macular (campo visual en cañón de escopeta) hasta fases finales.



Visión de un paciente con RP comparada con visión normal.

Otro signo clínico, es el acúmulo de pigmento con morfología variable (habitualmente simulando espículas óseas) cuya distribución en la retina se correlaciona bastante bien con las lesiones campimétricas. Estos depósitos se deben a la migración y proliferación de pigmento del EPR lesionado hacia las capas internas de la retina. Posteriormente pueden darse lugar alteraciones en la visión cromática, probablemente a causa de la pérdida funcional de los conos [4].



Representación del fondo de ojo afectado por RP

1.2 NISTAGMO OPTOCINÉTICO

Lo primero que debemos conocer para entender el porqué de este estudio es qué es el nistagmo optocinético. Se trata de un movimiento rítmico de los ojos, inconsciente e involuntario, de naturaleza refleja, presente desde el nacimiento. Está compuesto por dos fases: una de “movimiento de seguimiento” lenta, que se dirige en el sentido en que se desplaza el objeto, seguido de otra fase rápida, el verdadero “movimiento sacádico”, de sentido contrario a éste[5].

La determinación de la agudeza visual en niños preverbales es complicada por lo que en las consultas de oftalmología pediátrica se utiliza como método de evaluación para su determinación el sistema optocinético, el cual se basa precisamente en la exploración del nistagmo optocinético.

El sistema optocinético se basa en el fenómeno por el cual un estímulo que se desplaza, genera un movimiento de seguimiento, y cuando abandona el campo visual se produce un movimiento sacádico de refijación. Si no se percibe el estímulo no se genera el movimiento.

El tambor de nistagmo optocinético consiste en un cilindro con bandas de alto contraste que gira de forma lenta, provocando este nistagmo. Mediante el uso de bandas de distinto grosor se puede determinar el grosor mínimo que desencadena el nistagmo como aproximación a la agudeza visual. La agudeza obtenida con este método se correlaciona bien con la visión obtenida con los test de mirada preferencial [6].



Exploración de la AV con tambor optocinético

1.3 MOTIVACIÓN Y OBJETIVOS DEL TRABAJO

Un sistema Optomotor de valoración visual permite una estimulación simple y rápida de la visión espacial de animales de experimentación, concretamente de roedores como ratones o ratas, basado en el mismo fundamento que el nistagmo optocinético, y suficientemente sensible para medir el déficit visual de diferentes modelos de enfermedades como degeneraciones retinianas, diabetes y glaucoma.

En nuestro estudio, como explicaré posteriormente, vamos a utilizar un sistema optomotor formado por cuatro monitores LCD que van a simular el funcionamiento de un tambor optocinético.

Los objetivos de este trabajo son la familiarización con el manejo del equipo, toma de medidas en ratas normales y con defectos visuales y obtención e interpretación de resultados.

Los resultados relativos a agudeza visual y sensibilidad al contraste se analizarán en conjunto y se compararán con la bibliografía existente.

2. MÉTODO Y OBJETIVOS

2.1 SUJETOS

Para la realización de este estudio, van a utilizarse dos modelos de ratas:

- 8 ratas Long Evans: modelo control, procedentes de los laboratorios Charles Rives, Barcelona, España, y mantenidas en colonia en la Universidad de Zaragoza. Las ratas fueron valoradas a la edad de 2 meses de edad (día postnatal 60 ó P60).
- 8 ratas P23H línea 1 heterocigotas pigmentadas (cruce de P23H albina y Long Evans): modelo de degeneración retiniana. Se analizaron en dos tiempos diferentes de la degeneración, a los 2 meses (P60) y a los 4 meses de edad (P120).

A continuación detallo las características de las mismas:

- Long Evans. Se trata del modelo animal muy utilizado en investigación. Su origen se remonta a 1915, cuando los doctores Largo y Evans, cruzaron varias hembras Wistar Institute blancas con un macho gris salvaje. Este tipo de ratas suelen ser blancas con manchas negras o en su defecto, marrones [7].

- Rata P23H. Este modelo animal de la RP posee una mutación autosómica dominante en el gen de la rodopsina. Se caracterizan por tener una lenta degeneración de los bastones, sin embargo los conos poseen una función normal inicialmente; lo que guarda gran relación con los síntomas clínicos que presentan los pacientes con RP, ya que muchos de ellos presentan diferentes mutaciones en el gen de la rodopsina. Existen 3 líneas de ratas P23H (línea 1, línea 2 y línea 3). En este trabajo se ha utilizado la línea 1, que es la que sufre una degeneración retiniana más rápida. Las ratas transgénicas homocigóticas P23H línea 1 han sido donadas por el Dr. Matthew LaVail (Universidad de San Francisco, California). Las ratas P23H heterocigóticas para el gen del P23H pigmentadas se obtuvieron del cruce de ratas homocigóticas P23H línea 1 con ratas normales pigmentadas Long Evans.

La colonia se mantuvo en el animalario de la Universidad de Zaragoza, con un ciclo de 12 horas luz, 12 horas oscuridad, con una iluminación variable en las horas de luz dependiendo del lugar de la caja entre 7-30 lux. Todos los procedimientos experimentales de este estudio se realizaron tras la aprobación por la Comisión Ética Asesora para la Experimentación Animal de la Universidad de Zaragoza y cumpliendo la normativa Española de protección animal RD53/2013, que cumple con la Directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo del 22 de septiembre de 2010 relativa a la protección de los animales utilizados para fines científicos.

2.2 DESCRIPCIÓN DEL APARATO

El sistema optocinético está compuesto por cuatro monitores LCD de 17 pulgadas (modelo 1703FP, Dell, Phoenix, AZ) que forman un cuadrado. De esta forma se simula un cilindro virtual, el cual se proyecta en tres dimensiones dando lugar a una rejilla sinusoidal vertical.

El campo de prueba consiste en una caja de Plexiglas (39 × 39 × 32,5 cm [L × W × H]) con aberturas rectangulares (33,5 × 26,5 cm [W × H]) en cada pared, las cuales están pintadas de blanco mate. La parte inferior del campo de prueba consiste en un espejo con un agujero en el centro de forma tangencial.

En la parte superior, y de forma tangencial se coloca un espejo con un gran agujero central (diámetro 25,3 cm).

La plataforma donde se van a colocar los animales a examinar es un disco de plexiglás blanco de distintos diámetros según el tamaño del animal estudiado (en el trabajo hemos utilizado el diámetro 5,3 cm) y se sitúa a 13 cm de altura. Éste se atornilla al suelo, pasando primero a través del agujero del espejo.

En la parte superior del campo de prueba se sitúa, unida a la tapa, una cámara (FireWireiSight, Apple ComputerCorp., Mountain View, CA, EEUU)

Por último comentar, que existen unos ventiladores que se utilizan para enfriar tanto los monitores como el campo de prueba.

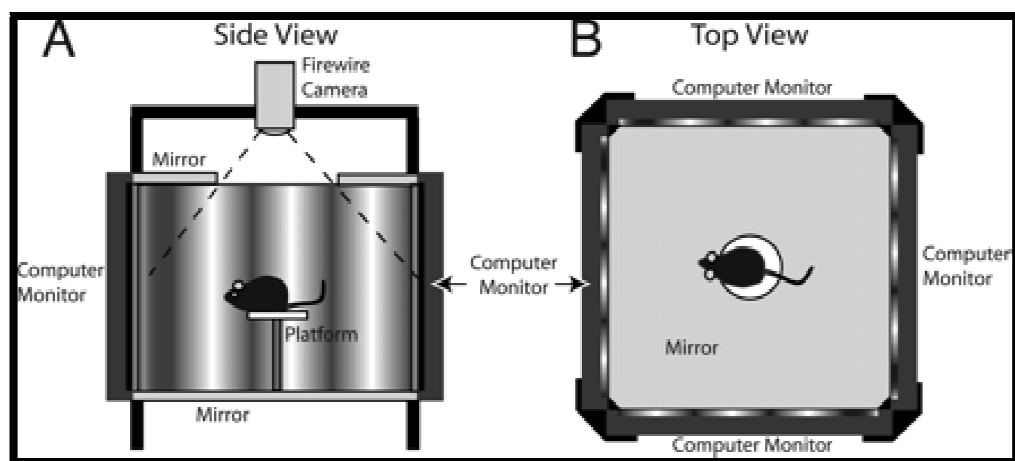


Fig. 1. Representación esquemática del aparato

El programa de ordenador que vamos a usar (OptoMotry©; CerebralMechanics, Lethbride, Alberta, Canadá) se ejecuta en un procesador dual (G4 o G5 Power Macintosh, Apple Computer Corp.) [8].

2.3 FUNCIONAMIENTO DEL APARATO

Primero, debe centrarse el retículo y enfocarse la cámara; para posteriormente colocar el roedor sobre la plataforma central. Éstos tienen libertad de movimiento dentro del campo de prueba.

A continuación, comienza el estudio. Cuando el ratón se mueve sobre la plataforma, el investigador debe seguirlo, manteniendo siempre sobre su cabeza una cruz superpuesta a la imagen del vídeo.

Las coordenadas “xy” de posición del punto de mirarse utilizan para que el centro de rotación del cilindro coincida con el centro del animal; de esta forma nos aseguramos que las paredes virtuales del cilindro se sitúan a una distancia constante; y la frecuencia espacial de la rejilla es la deseada.

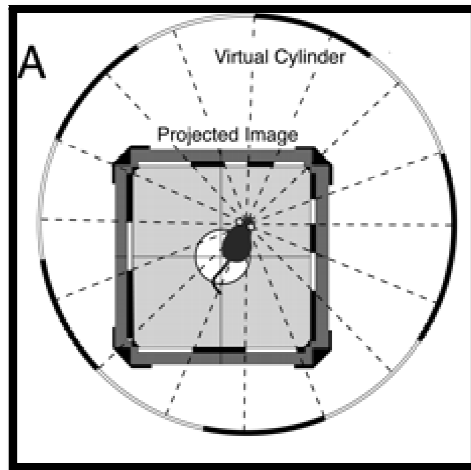


Fig. 2A Representación esquemática del funcionamiento

Cuando se proyecta una rejilla perceptible para el ratón en la pared del cilindro, el roedor deja de mover su cuerpo y comienza a realizar un seguimiento de la rejilla, únicamente moviendo la cabeza en el mismo sentido que lo hace la rejilla.

El experimentador evalúa si el animal consigue ver la rotación del cilindro mediante el control en la pantalla de ordenador. Si el ratón consigue verla, su cabeza girará en el sentido que lo hace el cilindro y a continuación volverá a su posición inicial.

Si durante el curso de la prueba, el ratón abandona su posición en la plataforma, lo volveremos a colocar sobre ésta y la reanudaremos [8].

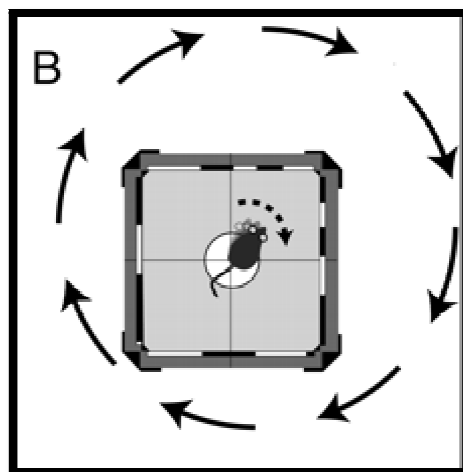


Fig. 2B Representación del movimiento de cabeza en función al sentido de giro de la rejilla

2.4 DETERMINACIÓN DE LOS UMBRALES VISUALES

Los umbrales visuales que vamos a explorar son:

- Agudezas visuales
- Sensibilidad al contraste

Va realizarse de dos formas:

- El observador observa el sentido de giro del cilindro
- El observador no ve la dirección en que gira el cilindro

2.4.1 Determinación de agudeza visual (AV)

La prueba comienza utilizando estímulos de frecuencias espaciales bajas (aproximadamente 0,1 c/g). Cuando observamos que el animal realiza el giro de cabeza, es decir, ha visto el estímulo presentado, respondemos “SI” o el sentido en el que lo ha realizado a favor (clockwise; CW) o en contra de las agujas del reloj (counterclockwise; CCW) en el programa, y automáticamente pasa a explorarse otra frecuencia más alta o bien la misma frecuencia pero en el otro sentido. Si por el contrario, tras varios intentos, vemos que el roedor no ve el estímulo presentado, responderemos “NO” y se explorará otra frecuencia más baja. Debe comentarse que para cada ojo, el movimiento del estímulo en dirección temporal – nasal provoca seguimiento, es decir CW mide el ojo izquierdo y CCW el ojo derecho.

Cuando nos acercamos al umbral, se van intercalando frecuencias con valores próximos a éste, tanto por encima como por debajo.

Al final de este procedimiento, cuando ya se ha determinado el máximo umbral que el animal es capaz de ver, se proyectará sobre el cilindro de nuevo el estímulo totalmente gris y en el programa aparecerán directamente los resultados (CW/CCW/media).

Cuando nos acercamos al umbral, se van intercalando frecuencias con valores próximos a éste, tanto por encima como por debajo.

Al final de este procedimiento, cuando ya se ha determinado el máximo umbral que el animal es capaz de ver, se proyectará sobre el cilindro de nuevo el estímulo totalmente gris y en el programa aparecerán directamente los resultados (CW/CW/media).

2.4.2 Determinación de la sensibilidad al contraste

Para evaluar la sensibilidad al contraste, el procedimiento a seguir va a ser similar al utilizado en la medición de la AV.

En este caso, la frecuencia espacial de la rejilla va a ser constante y lo que va a ir variando va a ser el contraste de la misma. En nuestro estudio van a explorarse cuatro frecuencias diferentes. Los estímulos que vamos a usar son:

- 0,022 c/g
- 0,042 c/g
- 0,089 c/g
- 0,175 c/g

El umbral de la frecuencia espacial se calcula mediante la “ecuación de Michelson”, es decir, utilizando la diferencia de luminancias de la pantalla.

$$C = \frac{L_{\text{máx}} - L_{\text{mín}}}{L_{\text{máx}} + L_{\text{mín}}}$$

Posteriormente, como veremos en el apartado de resultados, la sensibilidad al contraste se representará en una gráfica como la inversa del valor obtenido en la prueba.

2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos obtenidos de las pruebas se introdujeron en una hoja de cálculo de Microsoft Office Excel 2010 (Microsoft). Los cálculos estadísticos adecuados para cada tipo de variable se realizaron mediante el paquete estadístico SPSS para Windows (versión 11).

Se aplicaron los siguientes test estadísticos en cada una de las variables obtenidas en el estudio:

- Para la descripción de las características funcionales se emplearon la media y el error estándar de la media.
- Para la comparación de variables cuantitativas de dos grupos dependientes se utilizaron tests no paramétricos para dos muestras pareadas, que permiten comparar las diferencias entre ambos grupos sin necesidad de que se trate de muestras Gaussianas. Para ello se utilizara el test de Wilcoxon, cuya hipótesis nula es que las medias de ambas muestras son las mismas. Un nivel de $p < 0,05$ será considerado estadísticamente significativo.
- Para la comparación de variables cuantitativas respecto a dos muestras independientes se utilizó la prueba no paramétrica de Kolmogorov-Smirnov, cuya hipótesis nula es que las distribuciones poblacionales son iguales. Un nivel de $p < 0,05$ será considerado estadísticamente significativo.

3.RESULTADOS

3.1 AGUDEZA VISUAL

La Tabla 1 muestra los resultados individuales de AV obtenidos para cada uno de los animales de los tres grupos de estudio. Dichos resultados se representan en las Figuras 1 y 2.

En el grupo de ratas Long Evans se obtuvo un valor de agudeza visual de $0,543 \pm 0,009$ ciclos/grado. Los valores medios encontrados para el grupo de ratas P23H a los dos meses de edad fueron inferiores ($0,316 \pm 0,004$ ciclos/grado) disminuyendo la AV media al analizar las ratas a los cuatro meses de edad ($0,151 \pm 0,007$ ciclos/grado).

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas para los valores de AV entre los tres grupos: $AV_{LE}-AV_{P23HP60}$, $AV_{LE}-AV_{P23HP120}$ y $AV_{P23HP60}-AV_{P23HP120}$ ($p=0,012$).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los valores obtenidos para el ojo derecho e izquierdo en ninguno de los tres grupos.

3.2 SENSIBILIDAD AL CONTRASTE

La Tabla 2 muestra los resultados individuales de sensibilidad al contraste (frecuencias de 0,022; 0,042; 0,089 y 0,175 ciclos/grado) obtenidos para cada uno de los animales de los tres grupos de estudio.

En la Figura 3 se representan los resultados promedio, en forma de U invertida con picos de $58,07 \pm 4,79$ (Long Evans), $58,36 \pm 6,69$ (P23H P60) y $18,57 \pm 0,50$ (P23H P120) para una frecuencia espacial de 0,089 ciclos/grado.

A diferencia de la AV, la curva de sensibilidad al contraste del grupo de ratas Long Evans y P23H a los dos meses de edad fue muy similar, sólo encontrando diferencias estadísticamente significativas para las frecuencias bajas ($p=0,012$ en la frecuencia de 0,022 ciclos/grado y $p=0,036$ en 0,042 ciclos/grado) pero no para las frecuencias altas ($p=0,735$ en 0,089 ciclos/grado y $p=0,123$ en 0,175 ciclos/grado).

Sin embargo, sí hubo claras diferencias entre la curva de sensibilidad al contraste del grupo P23H a los cuatro meses de edad y los otros dos grupos ($p=0,012$ en 0,022, 0,089 y 0,175 ciclos/grado y $p=0,036$ en 0,042 ciclos/grado). En la Figura 4 se comparan las curvas de sensibilidad al contraste de las ratas P23H a los dos y cuatro meses de edad.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los valores del ojo derecho e izquierdo en ninguno de los tres grupos.

Long Evans			
Animal	Agudeza visual (cpg)		
	CW	CCW	Promedio
1	0,586	0,511	0,549
2	0,569	0,492	0,531
3	0,481	0,511	0,496
4	0,556	0,543	0,549
5	0,567	0,492	0,529
6	0,569	0,531	0,550
7	0,568	0,569	0,569
8	0,586	0,558	0,572
Media	0,560	0,526	0,543

P23H P60				P23H P120			
Animal	Agudeza visual (cpg)			Animal	Agudeza visual (cpg)		
	CW	CCW	Promedio		CW	CCW	Promedio
1	0,303	0,342	0,322	1	0,156	0,207	0,181
2	0,292	0,308	0,300	2	0,123	0,111	0,117
3	0,315	0,328	0,321	3	0,183	0,155	0,169
4	0,352	0,313	0,332	4	0,178	0,159	0,168
5	0,315	0,332	0,323	5	0,122	0,147	0,134
6	0,326	0,303	0,314	6	0,168	0,128	0,148
7	0,305	0,295	0,300	7	0,137	0,146	0,141
8	0,326	0,304	0,315	8	0,169	0,136	0,152
Media	0,317	0,316	0,316	Media	0,155	0,149	0,151

Tabla 1. Valores individuales de agudeza visual para ojo derecho (cw), ojo izquierdo (ccw) y promedio de los tres grupos de estudio. Arriba, Long Evans; abajo, P23H (izquierda, dos meses; derecha cuatro meses de edad).

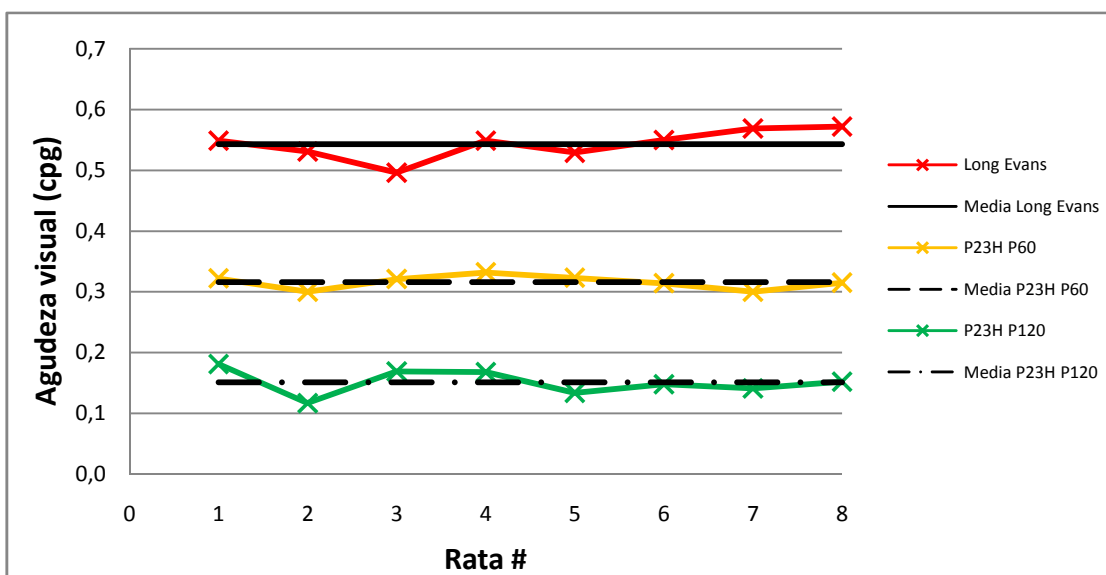


Figura 1. Representación de los valores individuales y promedio de agudeza visual de los tres grupos de estudio. Rojo, Long Evans; amarillo, P23H P60; verde, P23H P120; negro, valores promedio.

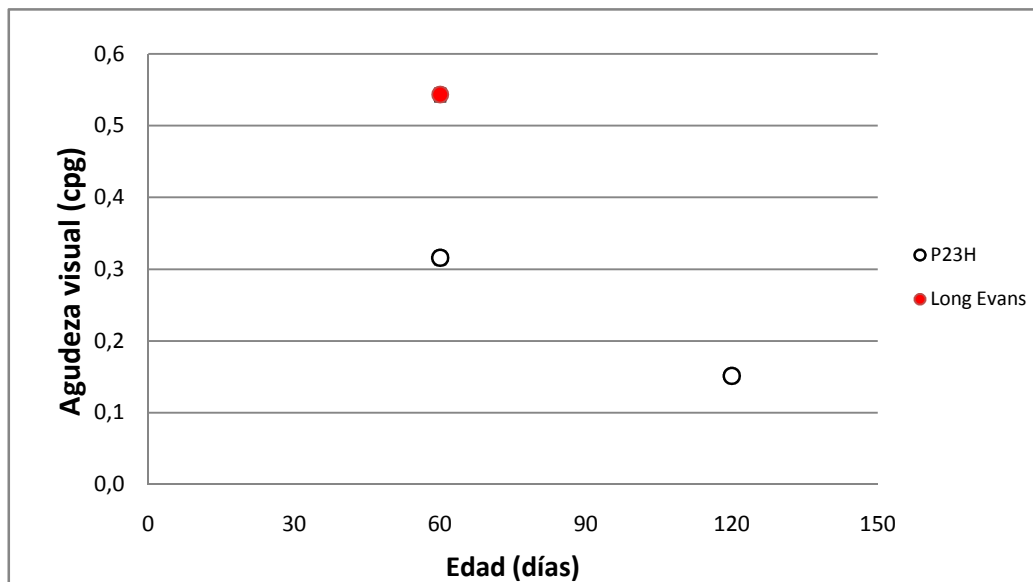


Figura 2. Representación de los valores promedio de agudeza visual de los tres grupos de estudio en función de la edad. Las barras verticales representan \pm error estándar de la media, aunque no son visibles por ser más pequeñas que los símbolos. Rojo, Long Evans; blanco, P23H.

Long Evans												
Animal	Sensibilidad contraste 0,022 cpg			Sensibilidad contraste 0,042 cpg			Sensibilidad contraste 0,089 cpg			Sensibilidad contraste 0,175 cpg		
	CW	CCW	Promedio	CW	CCW	Promedio	CW	CCW	Promedio	CW	CCW	Promedio
1	11,628	9,804	10,638	32,258	27,778	29,412	66,667	71,429	71,429	14,286	6,849	9,259
2	8,000	8,000	8,000	23,256	21,277	22,222	37,037	47,619	41,667	14,286	14,286	14,286
3	9,804	9,174	9,524	16,949	18,182	17,544	43,478	50,000	47,619	12,821	6,757	8,850
4	11,628	11,628	11,628	32,258	34,483	33,333	45,455	58,824	52,632	11,628	8,547	9,804
5	11,111	8,547	9,615	25,641	18,182	21,277	76,923	58,824	66,667	12,821	14,286	13,514
6	13,514	11,628	12,500	37,037	40,000	38,462	90,909	55,556	71,429	15,152	15,152	15,152
7	9,174	8,000	8,547	15,152	14,286	14,706	41,667	41,667	41,667	10,638	9,524	10,000
8	10,000	15,152	12,048	43,478	41,667	41,667	58,824	90,909	71,429	14,286	15,152	14,706
Media	10,607	10,242	10,313	28,254	26,982	27,328	57,620	59,353	58,067	13,239	11,319	11,946
P23H P60												
Animal	Sensibilidad contraste 0,022 c/g			Sensibilidad contraste 0,042 c/g			Sensibilidad contraste 0,089 c/g			Sensibilidad contraste 0,175 c/g		
	CW	CCW	Promedio	CW	CCW	Promedio	CW	CCW	Promedio	CW	CCW	Promedio
1	8,850	10,417	9,615	16,129	17,857	16,949	41,667	45,455	43,478	12,987	13,514	13,333
2	8,264	7,634	7,937	19,231	19,608	19,231	71,429	76,923	76,923	14,286	16,949	15,625
3	8,264	9,524	8,850	15,152	17,241	16,129	47,619	43,478	45,455	9,709	12,195	10,870
4	8,475	10,417	9,346	17,241	17,857	17,544	43,478	50,000	47,619	13,514	13,514	13,514
5	8,130	10,101	9,009	25,641	30,303	27,778	90,909	83,333	90,909	16,129	14,286	15,152
6	7,634	8,065	7,874	15,873	13,889	14,925	45,455	62,500	52,632	12,987	12,346	12,658
7	8,130	7,407	7,752	12,346	12,658	6,250	37,037	38,462	38,462	10,101	12,048	10,989
8	9,709	8,929	9,346	18,519	16,393	8,696	83,333	58,824	71,429	14,286	13,333	13,889
Media	8,432	9,062	8,716	17,516	18,226	15,938	57,616	57,372	58,363	13,000	13,523	13,254
P23H P120												
Animal	Sensibilidad contraste 0,022 c/g			Sensibilidad contraste 0,042 c/g			Sensibilidad contraste 0,089 c/g			Sensibilidad contraste 0,175 c/g		
	CW	CCW	Promedio	CW	CCW	Promedio	CW	CCW	Promedio	CW	CCW	Promedio
1	3,546	5,618	4,348	7,246	7,752	7,519	14,706	17,857	16,129	1,873	2,101	2,000
2	5,376	6,061	5,882	12,195	8,403	10,000	17,241	22,222	19,608	1,433	1,751	1,577
3	6,289	7,194	6,711	11,628	12,821	12,195	16,393	20,408	18,182	2,268	2,591	2,421
4	4,630	4,444	4,545	10,753	14,085	12,195	22,222	19,608	20,833	1,919	1,965	1,942
5	6,061	4,274	5,025	11,236	9,901	10,526	17,241	21,739	19,231	1,706	1,520	1,608
6	4,425	5,587	4,950	8,475	10,309	9,346	17,544	19,231	18,519	1,976	2,137	2,053
7	5,714	6,536	6,098	10,101	12,346	5,556	16,667	20,408	18,519	1,174	1,437	1,292
8	5,405	5,051	5,236	14,706	13,158	13,889	18,519	16,667	17,544	1,294	1,468	1,376
Media	5,181	5,595	5,349	10,792	11,097	10,153	17,567	19,768	18,570	1,705	1,871	1,784

Tabla 2. Valores individuales de sensibilidad al contraste para ojo derecho (cw), ojo izquierdo (ccw) y promedio de los tres grupos de estudio. Arriba, Long Evans; centro, P23H P60; abajo, P23H P120.

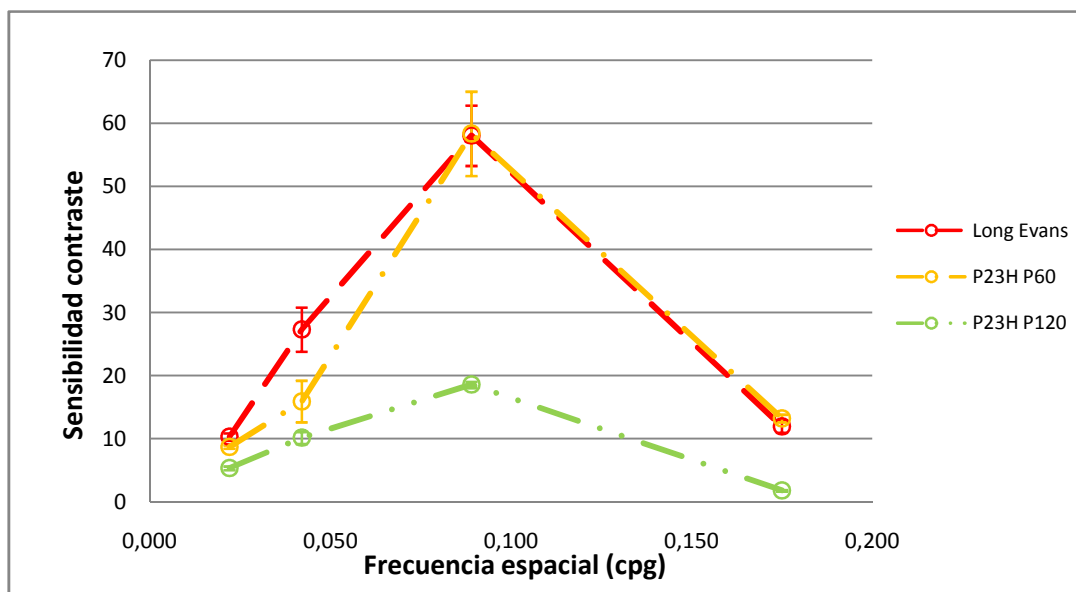


Figura 3. Representación de los valores promedio de sensibilidad al contraste de los tres grupos de estudio en función de la frecuencia espacial. Las barras verticales representan \pm error estándar de la media. Rojo, Long Evans; amarillo, P23H P60; verde, P23H P120.

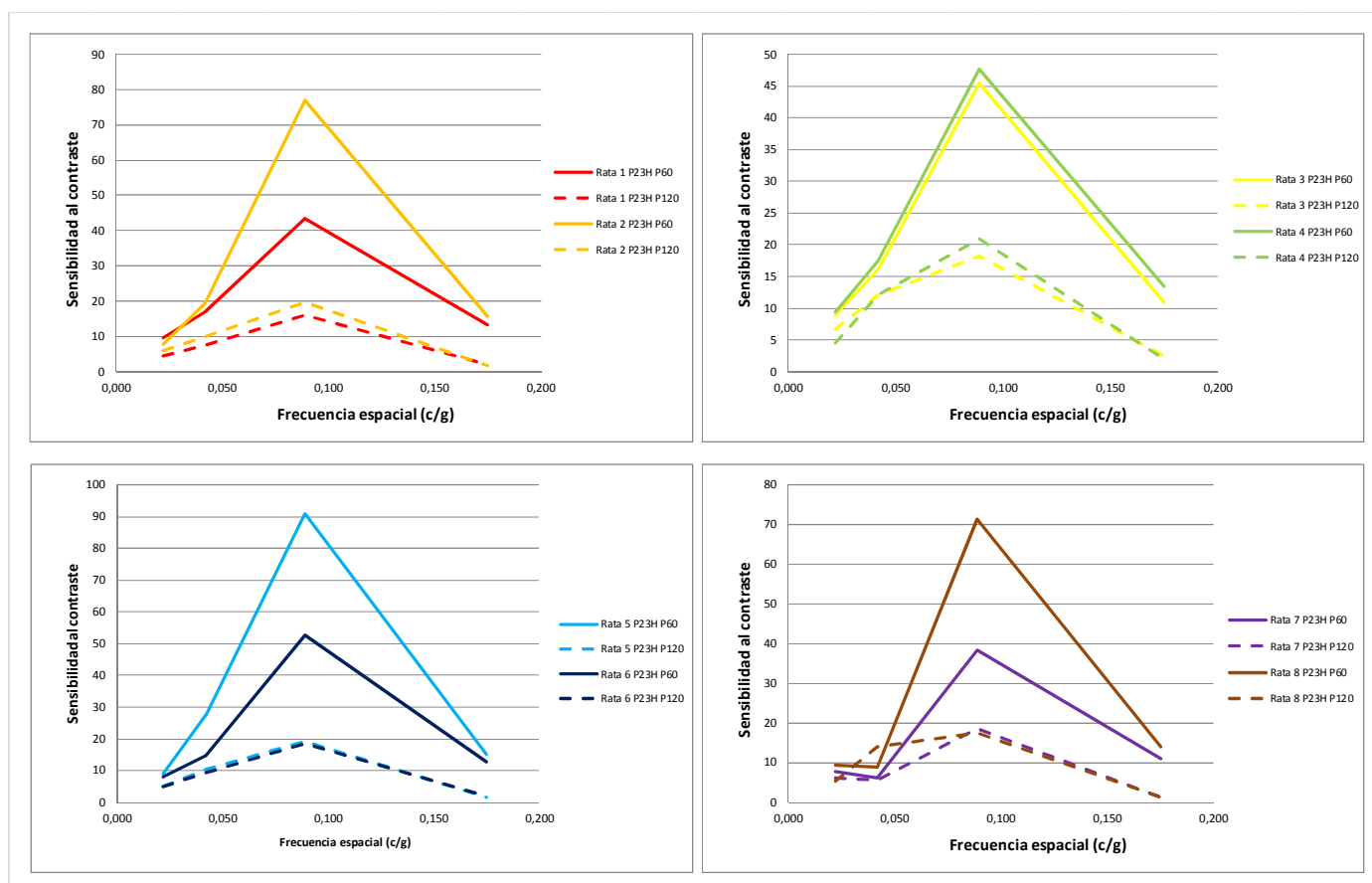


Figura 4. Comparación de las curvas de sensibilidad al contraste de las ratas P23H a los dos (P60) y cuatro meses (P120) de edad. Rojo, rata 1; naranja, rata 2; amarillo, rata 3; verde, rata 4; azul claro, rata 5; azul oscuro, rata 6; morado, rata 7; marrón, rata 8. Línea continua, P60; línea discontinua, P120.

4.DISCUSIÓN

El principal objetivo de este estudio ha sido determinar la pérdida de AV y sensibilidad al contraste en las ratas del modelo P23H que han sido genéticamente modificadas mediante una de las mutaciones de la rodopsina, la mutación autosómica dominante más frecuente en Norte América. Para ello hemos utilizado un sistema optomotor. La resolución o AV de los roedores es baja ya que carecen de mácula como la mayoría de los animales, y tampoco tienen una zona donde se concentre un mayor número de conos. Esto justifica resoluciones espaciales bajas en comparación con los primates.

Estas ratas desarrollan una disfunción progresiva de los bastones, aunque inicialmente exhiban una función normal de los conos, que es coherente en términos generales con los hallazgos clínicos encontrados para pacientes humanos con RP. En este modelo animal, la pérdida de fotorreceptores es acompañada por cambios degenerativos en la retina interna, incluyendo una degeneración substancial de las células ganglionares retinianas. Incluso las ratas P23H de la línea 1 (las que han sido utilizadas en esta investigación), que experimentan una degeneración retiniana más rápida en comparación con la línea 3, conservan la visión por períodos relativamente largos de sus vidas, de manera similar a los hallazgos en los seres humanos.

Observando los resultados obtenidos, y como se comentará en el apartado siguiente de conclusiones, se demuestra que si existe una disminución de la AV y de la sensibilidad al contraste si se compara con el modelo Long-Evans (grupo control) ya evidente a la edad de dos meses.

Ahora bien, para que estos valores cobren sentido, deben ser comparados con otros estudios realizados similares al nuestro.

Uno de estos estudios [9] utilizó como sujetos cuatro ratas del modelo Long-Evans, seis ratas RCS congénitas control y seis ratas RCS distróficas. En este caso, se utilizó como método para la valoración de la visión un sistema optocinético diferente al utilizado en nuestra investigación ya que se trataba de un depósito lleno de agua en forma de trapecio con dos monitores enfrentados a través de un espejo y en los cuales se proyectaban las rejillas sinusoidales generadas con el programa Vista de CerebralMechanics. También, a diferencia de nuestro estudio, la medición se realizó en las ratas Long-Evans y las RCS congénitas a los seis y doce meses; y en el caso de las RCS distróficas, se hizo mensualmente.

Si lo comparamos con nuestro estudio, los picos de agudeza visual y sensibilidad al contraste, eran mayores tanto en el modelo Long-Evans como el modelo degenerativo retiniano. Esto puede deberse a la experiencia en el manejo de este equipo. Sin embargo, en ambos estudios se observa una clara relación en la pérdida de visión y el tiempo transcurrido en el modelo de degeneración retiniana. Debe comentarse que en el estudio referenciado la pérdida de visión fue significativamente llamativa en los primeros meses de vida, y que probablemente en esta investigación hubiese sucedido lo mismo, ya que la línea 1, como se comenta anteriormente, sufre una degeneración más rápida.

También se observó una correlación con otro estudio similar de McGill y colaboradores [10] en el cual se utilizaban ratas de los mismos modelos que los que han sido utilizados en la realización de esta investigación. Este estudio demuestra que no existe una relación directa entre la pérdida de fotorreceptores y la disminución de la agudeza visual y la sensibilidad al contraste.

Por último, y comparándolo con un tercer estudio [11] comprobamos que nuestra investigación sigue la misma línea que éste: disminución de agudeza visual y sensibilidad al contraste en ratas con degeneración retiniana. Al igual que sucedía con el primer caso, los picos de agudeza visual así como el pico máximo de la curva en “U invertida” de la sensibilidad al contraste son mayores que los valores que se han obtenido en nuestras medidas.

Teniendo en cuenta todos los trabajos mencionados anteriormente, vemos la coherencia de nuestros resultados así como la correlación con otros que siguen la misma línea. Las pequeñas diferencias encontradas entre éstos, pueden ser debidas a la experiencia en el manejo del sistema optocinético, a los diferentes modelos de ratas utilizados así como la edad de los animales en el momento de la medición.

Aunque se ha visto una clara relación entre la pérdida de visión con el avance de la degeneración retiniana, no podemos afirmar a ciencia cierta que la disminución de agudeza visual y de sensibilidad al contraste esté asociada a una pérdida de fotorreceptores como argumenta uno de los estudios mencionados; por lo que para completar esta investigación, si hubiese sido posible, debería haberse realizado un electroretinograma (ERG) de campo completo, tipo Ganzfeld, a los animales que han sido objeto de este proyecto que nos aporta datos adicionales sobre la respuesta de la totalidad de la retina al estímulo lumínico en distintas condiciones ambientales y con distintas intensidades y longitudes de onda de la luz

5. CONCLUSIONES

Las conclusiones obtenidas a partir de este estudio han sido las siguientes:

1. El sistema optocinético es de utilidad para la valoración de la agudeza visual y la sensibilidad al contraste en modelos roedores.
2. La agudeza visual en el modelo P23H línea 1 pigmentada heterocigota a la edad de 60 días fue inferior a la obtenida para la rata control Long Evans de la misma edad.
3. Se ha observado una disminución de agudeza visual transcurridos dos meses (mediciones a los 60 y 120 días) en el modelo P23H.

4. En términos generales, la sensibilidad al contraste en los sujetos con 60 días en el modelo Long Evans y P23H eran similares.
5. Se ha encontrado, al igual que ocurría con la agudeza visual, una disminución de los valores de sensibilidad al contraste en el modelo de rata P23H con 60 y 120 días.
6. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas ni en la agudeza visual ni en la sensibilidad al contraste entre el ojo derecho e izquierdo.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Martinez-Navarrete, G., et al. *Retinal degeneration in two lines of transgenic S334ter rats*. Exp Eye Res, 2011. 92(3): p. 227-37.
2. <http://www.retinosispigmentaria.org/es/retinosis1.html>
3. Lax, P., et al., *Circadian dysfunction in P23H rhodopsin transgenic rats: effects of exogenous melatonin*. J Pineal Res, 2011. 50(2): p. 183-91.
4. Valverde-Perez, D. *Análisis molecular de dos genes candidatos para la retinosis autosómica recesiva*, 1997, Universidad de La Coruña: La Coruña.
5. Perea, J. *Definición de estrabismo a lo largo de la historia*.<http://www.doctorperea.es/pdfs/capitulo14.pdf>
6. <http://www.neuropedwikia.es/content/exploracion-de-la-agudeza-visual-en-la-infancia>
7. <http://www.taconic.com/wmspage.cfm?parm1=779>
8. Glen T. Prusky, Nazia M Alam, Steven Beekman, Robert M Douglas. *Rapid Quantification of Adult and Developing Mouse Spatial Vision Using a Virtual Optomotor System*. Investigative Ophthalmology & Visual Science, December 2004, Vol 45, Nº12.
9. Trevor J. McGill, Robert M. Douglas, Raymong D. Lund, Glen T. Prusky. *Quantification of Spatial Vision in the Royal College of Surgeons Rat*. Investigative Ophthalmology & Visual Science, December 2004, March 2004 vol. 45 Nº. 3 932-936

10. McGill TJ, Prusky GT, Douglas RM, Yasumura D, Matthes MT, Lowe RJ, Duncan JL, Yang H, Ahern K, Daniello KM, Silver B, LaVail MM. *Discordant anatomical, electrophysiological, and visual behavioral profiles of retinal degeneration in rat models of retinal degenerative disease*. Investigative Ophthalmology & Visual Science, December 2012, vol 53, № 10 6232-6244
11. T. J. McGill, R.M. Douglas, N.M. Alam, Silver, W.W. Tschetter, G.T. Prusky. *Independent visual threshold measurements in the two eyes of freely moving rats and mice using a virtual-reality optokinetic system*. Visual Neuroscience, 2005, vol 22, №. 677–684.